

Первый опыт создания иммуномодулятора экстракорпорального типа

Седёлкина Елена Леонидовна, Рябцева Татьяна Владимировна

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

Научный(-е) руководитель(-и) – доктор медицинских наук, профессор Кирковский

Валерий Васильевич, Белорусский государственный медицинский университет, Минск
кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Бычко Галина Николаевна,
Белорусский государственный медицинский университет, Минск

Введение

В попытке создать безопасный способ использования биологических стимуляторов и повысить их эффективность нами был предложен вариант *ex vivo* стимуляции клеток. В основу положен принцип иммобилизации на гемосовместимой матрице иммуотропных объектов качестве лиганда. Метод назван экстракорпоральной иммунокоррекции (ЭИ) и заключается в прямом взаимодействии активатора склетками крови в экстракорпоральном контуре.

Цель исследования

Создать лиганд на основе биологического стимулятора и изучить его биологические свойства.

Материалы и методы

Целевой объект исследований – суспензия эукариотических клеток, их лизат и выделенная из лизата фракция биологически активных соединений (лиганд). Биологические свойства изучали в экспериментах *in vitro* на донорской крови, смешанной в равных соотношениях с гипотоническим раствором NaCl (контроль), лигандом (проба) и суспензией клеток (группа сравнения). Концентрацию цитокинов определяли методом ИФА, анализ антигенной экспрессии проведен на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto.

Результаты

Лиганд-активатор для ЭИ был получен путем механического разрушения эукариотических клеток и очищен методом колоночной гель-хроматографии. Выявили достоверный рост провоспалительных цитокинов при контакте клеток крови с лигандом и суспензией клеток: для ИЛ-6 в 6 раз, для ФНО- α в 3 раза относительно группы сравнения. Уровень эластазы возрастал только в образце с цельными клетками. Таким образом, лиганд не активизирует кислородный взрыв нейтрофилов, а значит и ПОЛ. Люминесцентное окрашивание свидетельствует об увеличении числа внутриклеточного РНК в нейтрофилах под действием лиганда, что говорит об активации синтетической функции клетки. Фенотипирование лейкоцитов подтвердило гипотезу об активации, зафиксировав статистически значимый рост численности нейтрофилов и моноцитов, экспрессирующих рецептор ранней активации (CD69). Показано достоверное увеличение экспрессии TLR2 на моноцитах, который имеет ключевую роль в передаче внутриклеточного сигнала и стимуляции синтеза медиаторов. Значительно увеличивалась экспрессия CD177, который отражает миграционные способности гранулоцитов. Также определили, что лиганд не обладает цитолитическим эффектом на клетки крови и не вызывает гибель лейкоцитов посредством апоптоза (CD95, аннексин V).

Выводы

Созданный лиганд на основе биологического сырья обладает выраженными иммуностимулирующими свойствами, сопоставимыми с эффектами суспензии клеток, но выгодно отличающийся от последней отсутствием стимуляции процессов ПОЛ. Лиганд пригоден для иммобилизации на гемосовместимую матрицу и является безопасным для применения в условиях *ex vivo*.